

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2002 年 10 月 17 日 (17.10.2002)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 02/080946 A1

(51) 国際特許分類: A61K 35/74, 31/047, 31/7004,
31/7016, 31/702, 38/05, 35/78, 7/26, 7/16, A61P 1/02

社内 Tokyo (JP). 蘭部 徹 (SONOBE,Toru) [JP/JP]; 〒
103-8330 東京都 中央区 日本橋室町1丁目5番3号 わ
かもと製薬株式会社内 Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP02/03293

(22) 国際出願日: 2002 年 4 月 2 日 (02.04.2002)

(74) 代理人: 中村 稔, 外 (NAKAMURA,Minoru et al.); 〒
100-8355 東京都 千代田区 丸の内 3 丁目 3 番 1 号 新
東京ビル Tokyo (JP).

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2001-102752 2001 年 4 月 2 日 (02.04.2001) JP
特願2001-267943 2001 年 9 月 4 日 (04.09.2001) JP

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,
BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,
DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS,
LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO,
NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL,
TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA,
ZM, ZW.

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): わかもと
製薬株式会社 (WAKAMOTO PHARMACEUTICAL
CO.,LTD.) [JP/JP]; 〒103-8330 東京都 中央区 日本橋
室町 1 丁目 5 番 3 号 Tokyo (JP).

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW,
MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特
許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 太田 行則
(OHTA,Yukinori) [JP/JP]; 〒103-8330 東京都 中央
区 日本橋室町1丁目5番3号 わかもと製薬株式会
社内 Tokyo (JP). 松山 恵理子 (MATSUYAMA,Eriko)
[JP/JP]; 〒103-8330 東京都 中央区 日本橋室町1丁目5
番3号 わかもと製薬株式会社内 Tokyo (JP). 小久保 直
美 (KOKUBO,Naomi) [JP/JP]; 〒103-8330 東京都 中
央区 日本橋室町1丁目5番3号 わかもと製薬株式会

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: COMPOSITIONS FOR PREVENTING AND/OR TREATING ORAL DISEASES

(54) 発明の名称: 口腔内疾患の予防及び／又は治療用組成物

(57) Abstract: Compositions for preventing and/or treating oral diseases which contain at least one member selected from among vital lactic acid bacteria, materials containing the lactic acid bacteria, culture filtrate of the lactic acid bacteria and processed products thereof, together with at least one member selected from among xylitol, sorbitol, erythritol, trehalose, maltitol, mannitol, palatinose, reducing lactose, sucrose, fructose, glucose, fructooligosaccharide, aspartame, *Acanthopanax senticosus* extract, *Houttuynia cordata* extract, *Monascus*, turmeric pigment, *Chaenomeles sinensis* extract, ganoderma extract, crataegus extract, shiitake mushroom extract, alpinia extract, stevia extract, lotus germ extract, *Momordica fructus* extract, green tea extract, milk thistle extract, purple unpolished rice extract, enzymatically digested licorice root, *Engelhardia chrysolepis Hance* extract, ginkgo extract, rooibos tea extract, mugwort extract, glycyrrhizin, gymnema extract and *Rosa roxburghii* extract.

[続葉有]



WO 02/080946 A1



(57) 要約:

生きた乳酸菌、該乳酸菌含有物、該乳酸菌培養ろ液、及びその処理物からなる群から選ばれた少なくとも1種と、キシリトール、ソルビトール、エリスリトール、トレハロース、マルチトール、マンニトール、パラチノース、還元乳糖、ショ糖、果糖、ブドウ糖、フラクトオリゴ糖、アスパルテーム、エゾウコギ抽出物、ドクダミ抽出物、紅麴、ウコン色素、カリン抽出物、霊芝抽出物、サンザシ抽出物、シイタケ抽出物、月桃抽出物、ステビア抽出物、ハス胚芽抽出物、ラカンカ抽出物、緑茶抽出物、マリアアザミ抽出物、紫玄米抽出物、酵素分解甘草、黄杞葉抽出物、イチヨウ抽出物、レイボス茶抽出物、ヨモギ抽出物、グリチルリチン、ギムネマ抽出物、及び刺梨抽出物からなる群から選ばれた少なくとも1種とを含有する口腔内疾患の予防及び／又は治療用組成物。

明 細 書

口腔内疾患の予防及び／又は治療用組成物

技術分野

本発明は、口腔内疾患の予防及び／又は治療用組成物に関する。

背景技術

乳酸菌が人の健康に有用であることは広く知られた事実であり、特に消化管内において、有害菌の増殖を抑制するなどの作用を有することから整腸薬として医薬品にも配合されている。近年、整腸作用とは別に乳酸菌の有用性が明らかにされつつある。その中で、虫歯、歯周病等の口腔内疾患に対する有用性を示すデータも公開されている。特開昭61-91126号公報には各種乳酸菌の滅菌菌体あるいは水抽出物の歯周病等の代表的原因菌であるバクテロイデス（*Bacteroides*）属細菌に対する有効性が示されているが、これは滅菌菌体を用いたものであり、生きた乳酸菌の口腔内疾患への応用は示されていない。

また、WO99/07826によれば、ある種の特定の乳酸菌が虫歯、歯周病等の口腔内疾患に有効であるとのデータが開示されているが、虫歯、歯周病等の口腔内疾患に対する効率的な利用形態や実施方法に関する技術は未だ解決されていない。例えば、虫歯、歯周病等の口腔内疾患に対する利用形態として、菌液あるいは乳酸菌粉末の塗布をするなどの方法が考えられるが、人が容易にこの方法を実施するには、時間帯、場所において制限がある。また、このような手段では、期待される効果は一時的であり、効率的な利用形態としては充分とはいえない。また、キシリトールが虫歯の発生に抑制的に働くことは広く知られた事実であり、キシリトール入りチューインガムなどの口腔用組成物が多く市販されているが、その虫歯抑制効果は充分とはいえない。

発明の開示

従って、本発明の目的は、口腔内疾患の予防、治療に、殺菌剤などの塗布などに比較して安全であり、何時でも手軽に利用でき、かつ、有効成分が口腔内で持続的に溶出される口腔内疾患の予防及び／又は治療用組成物を提供することである。

本発明の他の目的は、従来のキシリトール含有組成物と比較して、口腔内疾患の予防、治療に、より有効な口腔内疾患の予防及び／又は治療用組成物を提供することである。

本発明者は、上記課題を解決するために鋭意研究を行った結果、生きた乳酸菌、該乳酸菌含有物、該乳酸菌培養ろ液、又はその処理物が、虫歯の原因とされるストレプトコッカス・ミュータンス (*Streptococcus mutans*) 等の虫歯菌や、歯周病の原因とされるポルフィロモナス・ジンジバリス (*Porphyromonas gingivalis*)、アクチノバチルス・アクチノミセテムコミタンス (*Actinobacillus actinomycescomitans*)、フソバクテリウム・ヌクレアタム (*Fusobacterium nucleatum*)、プレボテラ・インターメディア (*Prevotella intermedia*) 等の歯周病菌の増殖に対し、抑制効果を示すこと、さらにまた、驚くべきことに、ストレプトコッカス・ミュータンスやポルフィロモナス・ジンジバリス、アクチノバチルス・アクチノミセテムコミタンス、フソバクテリウム・ヌクレアタム、プレボテラ・インターメディアの増殖に対し、キシリトール等の甘味料や砂糖等の糖類、各種植物抽出物は単独ではほとんど影響しないが、生きた乳酸菌、該乳酸菌含有物、該乳酸菌培養ろ液、又はその処理物にこれらの甘味料や糖類、各種植物抽出物を配合することで、生きた乳酸菌、該乳酸菌含有物、該乳酸菌培養ろ液、又はその処理物単独よりも際だった、これら口腔病原菌の増殖抑制効果を示すことを発見した。本発明はこれらの発見に基づいて完成されたものである。

すなわち本発明は、生きた乳酸菌、該乳酸菌含有物、該乳酸菌培養ろ液、及びその処理物からなる群から選ばれた少なくとも 1 種（以下、これらの成分を「乳

酸菌成分」又は単に「乳酸菌」と呼ぶこともある）と、キシリトール、ソルビトール、エリスリトール、トレハロース、マルチトール、マンニトール、パラチノース、還元乳糖、ショ糖、果糖、ブドウ糖、フラクトオリゴ糖、アスパルテーム、エゾウコギ抽出物、ドクダミ抽出物、紅麹、ウコン色素、カリン抽出物、霊芝抽出物、サンザシ抽出物、シイタケ抽出物、月桃葉抽出物、ステビア抽出物、ハス胚芽抽出物、ラカンカ抽出物、緑茶抽出物、マリアアザミ抽出物、紫玄米抽出物、酵素分解甘草、黄杞葉抽出物、イチヨウ抽出物、ルイボス茶抽出物、ヨモギ抽出物、グリチルリチン、ギムネマ抽出物、及び刺梨抽出物からなる群から選ばれた少なくとも1種（以下、これらの成分を「添加物質」又は「添加物」と呼ぶこともある）とを含有する口腔内疾患の予防及び／又は治療用組成物を提供するものである。

本発明に使用される抽出物は、水、含水アルコール（特にエタノール）、アルコール（特にエタノール）により、室温～溶媒の沸騰温度までの温度で抽出された抽出物である。

発明を実施するための最良の形態

本発明に用いる乳酸菌としては特に制限はないが、ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 属の乳酸菌、特にヒト口腔内常在菌であるラクトバチルス・サリバリウス (*Lactobacillus salivarius*)、腸管内常在菌であるラクトバチルス・アシドフィルス (*Lactobacillus acidophilus*)、ラクトバチルス・ガッセリ (*Lactobacillus gasseri*)、ラクトバチルス・ラムノーサス (*Lactobacillus rhamnosus*) 及びラクトバチルス・ジョンソニー (*Lactobacillus johnsonii*) などが安全性の面でも好適であり、より好ましくは口腔内常在菌であるラクトバチルス・サリバリウスである。これら乳酸菌は、本発明の口腔用組成物の一日摂取量あたり、乳酸菌数で、好ましくは100万個から1000億個、より好ましくは1億個

から1000億個、最も好ましくは10億個から1000億個を配合することが望ましい。

生きた乳酸菌としては、生菌体、湿潤菌、乾燥菌等が適宜使用可能である。乳酸菌含有物としては、乳酸菌懸濁液；乳酸菌培養物（菌体、培養上清液、培地成分を含む）；乳酸菌飲料、酸乳、ヨーグルト等乳酸菌発酵した飲食品からなる乳酸菌発酵乳；等が挙げられる。乳酸菌培養ろ液としては、乳酸菌培養物から乳酸菌を除去した培養ろ液が挙げられる。処理物としては、乳酸菌、乳酸菌含有物、乳酸菌培養ろ液の濃縮物、ペースト化物、乾燥物（噴霧乾燥物、凍結乾燥物、真空乾燥物、ドラム乾燥物等）、液状物、希釈物等が挙げられる。

本発明の組成物中の乳酸菌成分の配合量は、任意でよいが、使用目的（予防又は治療）に応じて適宜定めればよく、通常、0.0001～90質量%、好ましくは0.001～20質量%、さらに好ましくは0.01～10質量%の範囲が適当である。

しかしながら、長期間に亘って保健上ないし健康維持の目的で摂取する場合には、上記範囲よりも少量であってもよいし、また本有効成分は、安全性について問題がないので、上記範囲よりも多量に使用しても一向にさしつかえない。

本発明の口腔内疾患の予防及び／又は治療用組成物の形態は、乳酸菌成分の少なくとも1種と、添加物質の少なくとも1種を含有するものであれば特に限定されないが、例えば、チューインガム、キャンデー、チョコレート、チュアブル錠、歯磨き等の食品又は口腔用組成物の形態が好ましい例として挙げられる。

本発明の組成物中の添加物質の量は、乾燥乳酸菌を使う場合、目的に応じて、少し倍散した濃厚菌末を少量添加して好ましい菌数にしたり、多めに倍散したうすい菌末を多量添加して好ましい菌数にしたりできるので、幅が広い。例えば、キシリトールの場合、好ましくは0.1～95.0質量%、さらに好ましくは1～90.0質量%、最も好ましくは10～65質量%である。

また、本発明の組成物中の乳酸菌成分と添加物質の質量比率は、例えば、乳酸菌とキシリトールの場合、好ましくは1：5～1000である。

食品や口腔用組成物、例えばチューインガムやチョコレートへの生きた菌体の配合には、凍結乾燥した菌体又はその倍散物が利用できる。凍結乾燥菌体の倍散物を調製するには、例えばデンプン、乳糖、白糖などが利用できる。好ましくはデンプンや乳糖で、1g当たりの生菌数を100億個から2000億個に希釈したもの（乳酸菌倍散物）が配合操作の面で適している。

チューインガムへの配合には、ガムベースに、例えばキシリトール、ソルビトール、マンニトール、エリスリトール、トレハロース、マルチトール、砂糖、ブドウ糖、アスパルテーム等の甘味料やオリゴ糖、デキストリン等で上記乳酸菌倍散物を希釈したものを加えれば良く、甘味料等の添加物をガムベースに加えた後、乳酸菌倍散物を加えても良い。甘味料としては、特に虫歯に対する有用性が知られているキシリトールとの配合が効果の面で相乗効果が期待でき、より好ましい。また、必要に応じて香料等を加えても何ら問題はない。これらの混合物を練合する温度は、好ましくは40から80℃、より好ましくは40から60℃、最も好ましくは50から60℃が適している。

ガムベース、乳酸菌倍散物、甘味料等をこのように練合したものは、通常の方法により、板ガム、粒ガム等に成型して供することができる。このように調製した乳酸菌入りチューインガム組成物は、配合時の生菌数に対して50%程度の高い生菌回収率を示し、かつ、溶出試験において良好な徐放性を示す。

チョコレートへの配合には、カカオマス及びココアバターの混合物を40から60℃で液化させた後、例えばキシリトール、ソルビトール、マンニトール、エリスリトール、トレハロース、マルチトール、砂糖、ブドウ糖、アスパルテーム等の甘味料やオリゴ糖、デキストリン等で上記乳酸菌倍散物を希釈したものを加

えれば良く、甘味料等の添加物を、液化させたカカオマス及びココアバターの混合物に加えた後、乳酸菌倍散物を加えても良い。甘味料としては、特に虫歯に対する有用性が知られているキシリトールとの配合が効果の面で相乗効果が期待でき、より好ましい。また、必要に応じて香料等を加えても何ら問題はない。このように調製した乳酸菌入りチョコレート組成物は、配合時の生菌数に対して100%近い生菌回収率を示す。

本発明の口腔内疾患の予防及び／又は治療用組成物を適用するのに好適な口腔内疾患の例としては、虫歯、歯周病が挙げられる。

以下に実施例、試験例を示し、より詳細に本発明を説明するが、本発明はこれらに限定されないことは言うまでもない。なおこの明細書中「%」は、他に明記しない限り「質量%」である。

使用した乳酸菌株は以下の通りである。

Ls：ラクトバチルス・サリバリウスWB21株（FERM P-17991号(=FERM BP-7792)、ラクトバシラス・サリバリウスWB21株は、FERM BP-7792(寄託日：平成12年8月14日)として〒305-8566茨城県つくば市東1丁目1番地1中央第6の独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センターに寄託されている。

La：ラクトバチルス・アシドフィルスWB2001株（わかもと整腸薬配合菌株）

GG：ラクトバチルス・ラムノーサスGG株（ATCC53103）

La1：ラクトバチルス・ジョンソニーLa1株（CNCM I-1225）

実施例1 チューインガム組成物1の製造

恒温槽で30分間60℃に加温したガムベース7gにキシリトール（東和化成製）9gおよびマンニトール（東和化成製）4gを加え2分間練合し、再び60

℃にて10分間加温した。これにラクトバチルス・アシドフィルス菌倍散物（1 gあたり 1.3×10^{11} 個の生菌を含む）0.08 gを加え2分間練合した後、再び60℃にて10分間加温した。その後、同操作（2分間練合、10分間加温）を4回繰り返し十分に練合した。得られた練合物を放冷する過程で、分割、圧延して厚さ約1 mmの板状に成型し組成物1を得た。

実施例2 チューインガム組成物2の製造

ラクトバチルス・アシドフィルス菌倍散物の代わりにラクトバチルス・サリバリウス菌倍散物（1 gあたり 3.16×10^{10} 個の生菌を含む）0.35 gを用い、実施例1と同様に操作し組成物2を得た。

実施例3 チューインガム組成物3の製造

マンニトールの代わりにソルビトール4 gを用い、実施例2と同様に操作し組成物3を得た。

実施例4 チューインガム組成物1の生菌数測定

本発明の組成物の生菌数測定法は以下の通りである。

1. 5%の細菌培養用寒天（和光純薬）を含むラクトバシリMRS培地（ディフコ）を滅菌後45から48℃に冷却し、約20 mlずつ3枚のシャーレに分注し寒天平板を作製した。作製した寒天平板に、適当に希釈した試験溶液を0.1 mlずつ加え、コンラージ棒で一様に塗布した後、37℃で48から72時間嫌気培養した。各平板に出現したコロニー数を計測し、平均コロニー数を算出後、試料1 g中の生菌数を以下の式により求めた。

試料1 g中の生菌数＝平均コロニー数×10×希釈倍率／試料採取量（g）

実施例 1 で製造したチューインガム組成物 1 を幅約 1 mm、長さ 15 mm 以内に細切し、測定用試料とした。これを約 1 g 正確に秤量し、20 ml の試験管に入れ、希釈液¹⁾ を正確に 10 ml 加え、以下に示す 2 種の抽出法により乳酸菌の抽出を行なった。

抽出法 1 ; 試験管ミキサーで 1 分間混合後 5 分間静置した。この操作を 8 回繰り返して抽出液を得た。

抽出法 2 ; 試験管ミキサーで 1 分間混合後 5 分間静置した。この操作を 5 回繰り返した後、更にスパーテルで 15 分間練合し抽出液を得た。

抽出法 1 及び抽出法 2 で得られた抽出液の上清を各々正確に 1 ml 量り希釈液を加え正確に 10 倍希釈した。この 10 倍希釈操作を更に 4 回繰り返して試験溶液とし、試験例に記載した方法により生菌数を求めた。また、求められた生菌数と添加時の乳酸菌理論量から生菌回収率（歩留まり）を求めた。結果を表 1 に示した。

希釈液¹⁾ の組成 ; 1 % ペプトン（ペクトンディッキンソン）、0.2 % ツイン 80（関東化学）0.8 % 塩化ナトリウム、0.02 % 塩化カリウムを含む 0.01 M リン酸緩衝液（pH 7.5）

表 1

チューインガム組成物 1 の生菌数測定結果

抽出法	ラクトバチルス・アシドフィルス生菌数	生菌回収率
1	$1.2 \times 10^8 / g$	23 %
2	$3.0 \times 10^8 / g$	58 %

実施例 5 チューインガム組成物 2 の生菌数測定

実施例 2 で製造したチューインガム組成物 2 を幅約 1 mm、長さ 15 mm 以内に細切し、測定用試料とした。

これを約 1 g 正確に秤量し、20 ml の試験管に入れ、希釈液¹⁾を正確に 10 ml 加え、以下に示す 3 種の抽出法により乳酸菌の抽出を行なった。

抽出法 1 ; 試験管ミキサーで 1 分間混合後 5 分間静置した。この操作を 8 回繰り返して抽出液を得た。

抽出法 2 ; 試験管ミキサーで 1 分間混合後 5 分間静置した。この操作を 5 回繰り返した後、更にスパーテルで 15 分間練合し抽出液を得た。

抽出法 3 ; 試験管ミキサーで 1 分間混合後 5 分間静置した。この操作を 5 回繰り返した後、更に乳鉢と乳棒で 15 分間練合し抽出液を得た。

抽出法 1、抽出法 2 及び抽出法 3 で得られた抽出液について実施例 4 と同様に操作し生菌数と生菌回収率（歩留まり）を求めた。結果を表 2 に示した。

表 2

チューインガム組成物 2 の生菌数測定結果

抽出法	ラクトバチルス・サリバリウス生菌数	生菌回収率
1	$1.8 \times 10^8 / g$	33%
2	$2.4 \times 10^8 / g$	44%
3	$2.6 \times 10^8 / g$	48%

実施例 6 チューインガム組成物 3 の生菌数測定

実施例 3 で製造したチューインガム組成物 3 を幅約 1 mm、長さ 15 mm 以内に細切し、測定用試料とした。

これを約 1 g 正確に秤量し、20 ml の試験管に入れ、希釈液¹⁾を正確に 10 ml 加え、以下に示す抽出法により乳酸菌の抽出を行なった。

抽出法 1 ; 試験管ミキサーで 1 分間混合後 5 分間静置した。この操作を 5 回繰り返した後、更にスパーテルで 15 分間練合し抽出液を得た。

抽出法 1 で得られた抽出液について実施例 4 と同様に操作し生菌数を求めた。
結果を表 3 に示した。

表 3

チューインガム組成物 3 の生菌数測定結果

抽出法	ラクトバチルス・サリバリウス生菌数	生菌回収率
1	$2.5 \times 10^8 / g$	46%

実施例 7 乳酸菌添加時の練合条件（温度、時間）による残存生菌数

ガムベース 7 g、キシリトール 9 g、マンニトール 4 g 及びラクトバチルス・サリバリウス菌倍散物 0.35 g を用い、実施例 1 の製造法に準じ、以下に示す条件にてチューインガム組成物を調製した。

チューインガム組成物 7-1 ; 練合温度 50℃、練合時間 1 時間

チューインガム組成物 7-2 ; 練合温度 50℃、練合時間 3 時間

チューインガム組成物 7-3 ; 練合温度 60℃、練合時間 1 時間

チューインガム組成物 7-4 ; 練合温度 60℃、練合時間 3 時間

チューインガム組成物 7-5 ; 練合温度 80℃、練合時間 1 時間

チューインガム組成物 7-6 ; 練合温度 80℃、練合時間 3 時間

これら 6 種のチューインガム組成物につき各々実施例 5 記載の抽出法 3 に従い抽出液を得、生菌数と回収率を求めた。結果を表 4 に示した。

表 4

6種の乳酸菌練合条件により得られた組成物の生菌数測定結果

チューインガム組成物	ラクトバチルス・サリバリウス生菌数	生菌回収率
7-1	$2.6 \times 10^8 / g$	49%
7-2	$1.9 \times 10^8 / g$	36%
7-3	$2.7 \times 10^8 / g$	53%
7-4	$1.4 \times 10^8 / g$	28%
7-5	$2.2 \times 10^8 / g$	41%
7-6	$0.1 \times 10^8 / g$	1%

実施例 8 チューインガム組成物からの乳酸菌の持続的溶出の確認

実施例 2 に示した製造法により得られたチューインガム組成物 2 を幅約 1 mm、長さ 15 mm 以内に細切し、約 1 g 正確に秤量し、20 ml の試験管に入れ、予め 37℃ に加温した希釈液¹⁾ を 10 ml 加えた。この試験管について 37℃ 水浴中で 5 分間静置後、試験管ミキサーで 1 分間攪拌する操作を 150 分間繰り返した。この間、経時的（試験開始 30 分、45 分、60 分、90 分、120 分、150 分後）に抽出液を 0.5 ml 採取し、希釈液¹⁾ で希釈し試験溶液を得、実施例 4 に従い生菌数を求めた。

実施例 3 に示した製造法により得られたチューインガム組成物 3 についても同様に試験した。結果を表 5 に示した。

表 5

チューインガム組成物からの乳酸菌の持続的溶出

抽出液採取 時間 (分)	チューインガム組成物 2		チューインガム組成物 3	
	回収生菌数/g	生菌回収率	回収生菌数/g	生菌回収率
30	0.60×10^8	11.3%	0.54×10^8	10.2%
45	0.61×10^8	11.5%	0.76×10^8	14.3%
60	0.75×10^8	14.1%	0.57×10^8	10.7%
90	1.00×10^8	18.8%	0.84×10^8	15.8%
120	1.03×10^8	19.4%	1.00×10^8	18.8%
150	1.32×10^8	24.8%	1.07×10^8	20.1%

試験例1 ストレプトコッカス・ミュータンスの増殖に対する乳酸菌、乳酸菌及びキシリトールの混合物の効果

この試験には、ストレプトコッカス・ミュータンス (JCM5705株、以下Sm) 及びLs、GG、La1の乳酸菌株を用いた。また、用いた培地は以下の通りである。

培地A：グルコースを1%となるように添加したGAM培地 (日水製薬)

培地B：キシリトールを1%となるように添加した培地A

乳酸菌生菌数測定培地：変法LBS寒天培地 (光岡知足編、腸内細菌学、477頁、朝倉書店、1990年)

Sm生菌数測定培地：バシトラシンを $10 \mu\text{g/ml}$ 、グルコースを1%となるように添加したGAM寒天培地

乳酸菌、Smを各々培地Aで 37°C 、一晩前培養し各菌液を得た。この菌液 $50 \mu\text{l}$ を 50ml の培地A及び培地Bに接種し、 37°C で乳酸菌及びSmの単独培養及び混合培養を行い、経時的に培養液を採取した。採取した培養液 $50 \mu\text{l}$ を適当に希釈し、乳酸菌生菌数測定培地及びSm生菌数測定培地に塗布し、 37°C

℃で3日間嫌気培養した。生じたコロニー数を計測し、生菌数を求めた。結果を表6から表8に示した。

表6 ストレプトコッカス・ミュータンス (Sm) の増殖に対するラクトバチルス・サリバリウス (Ls) の効果

培養時間 (h)	Ls生菌数 (Log ₁₀ /ml)				Sm生菌数 (Log ₁₀ /ml)			
	培地A		培地B		培地A		培地B	
	Ls単独	Ls+Sm	Ls単独	Ls+Sm	Sm単独	Ls+Sm	Sm単独	Ls+Sm
0	6.05	6.05	6.05	6.05	5.75	5.75	5.75	5.75
16	8.32	8.56	8.64	8.75	9.16	5.80	8.91	4.70
20	7.81	8.08	8.38	8.27	7.39	4.51	9.24	3.30

表7 ストレプトコッカス・ミュータンス (Sm) の増殖に対するラクトバチルス・ラムノーサス (GG) の効果

培養時間 (h)	Sm生菌数 (Log ₁₀ /ml)			
	培地A		培地B	
	Sm単独	GG+Sm	Sm単独	GG+Sm
0	6.68	6.68	6.68	6.68
16	9.52	8.00	9.50	7.16
20	9.52	7.16	9.42	6.53

表8 ストレプトコッカス・ミュータンス (Sm) の増殖に対するラクトバチルス・ジョンソニー (La1) の効果

培養時間 (h)	Sm生菌数 (Log ₁₀ /ml)			
	培地A		培地B	
	Sm単独	La1+Sm	Sm単独	La1+Sm
0	6.68	6.68	6.68	6.68
16	9.52	3.90	9.50	2.08
20	9.52	2.43	9.42	1.00

表6から表8に示したように、Smの増殖に対し、乳酸菌は強い増殖抑制を示したが、キシリトールはほとんど影響しなかった。乳酸菌にキシリトールを同時

に作用させた場合、乳酸菌のS m増殖抑制効果はさらに著しく高まることが明らかとなった。

試験例2 ポルフィロモナス・ジンジバリスの増殖に対する乳酸菌、乳酸菌及びキシリトールの混合物の効果

この試験では、ポルフィロモナス・ジンジバリス（JCM8525株、以下Pg）及び試験例1に示した乳酸菌株を用いた。また、用いた培地は以下の通りである。

培地A：グルコースを1%となるように添加したGAM培地（日水製薬）

培地B：キシリトールを1%となるように添加した培地A

Pg生菌数測定培地：硫酸ゲンタマイシンを10μg/mlとなるように添加したEG寒天培地（光岡知足編、腸内細菌学、475頁、朝倉書店、1990年）

乳酸菌、Pgを各々培地Aで37℃、一晩前培養し各菌液を得た。この菌液50μlを50mlの培地A及び培地Bに接種し、37℃でPgの単独培養及び乳酸菌との混合培養を行い、経時的に培養液を採取した。採取した培養液50μlを適当に希釈し、Pg生菌数測定培地に塗布し、37℃で3日間嫌気培養した。生じたコロニー数を計測し、生菌数を求めた。結果を表9から表11に示した。

表9 ポルフィロモナス・ジンジバリス（Pg）の増殖に対するラクトバチルス・サリバリウス（Ls）の効果

培養時間 (h)	Pg生菌数 (Log ₁₀ /ml)			
	培地A		培地B	
	Pg単独	Ls+Pg	Pg単独	Ls+Pg
0	8.48	8.48	8.48	8.48
6	8.00	8.15	7.96	7.59
9	8.33	<1	8.18	<1

表 1 0 ポルフィロモナス・ジンジバリス (P g) の増殖に対するラクトバチルス・ラムノーサス (G G) の効果

培養時間 (h)	Pg生菌数 (Log ₁₀ /ml)			
	培地A		培地B	
	Pg単独	GG+Pg	Pg単独	GG+Pg
0	8.48	8.48	8.48	8.48
6	8.00	8.20	7.96	7.69
9	8.33	5.10	8.18	1.78

表 1 1 ポルフィロモナス・ジンジバリス (P g) の増殖に対するラクトバチルス・ジョンソニー (L a 1) の効果

培養時間 (h)	Pg生菌数 (Log ₁₀ /ml)			
	培地A		培地B	
	Pg単独	La1+Pg	Pg単独	La1+Pg
0	8.48	8.48	8.48	8.48
6	8.00	3.90	7.96	<1
9	8.33	<1	8.18	<1

表 9 から表 1 1 に示したように、ポルフィロモナス・ジンジバリス (P g) の増殖に対し、乳酸菌は強い増殖抑制を示したが、キシリトールはほとんど影響しなかった。乳酸菌にキシリトールを同時に作用させた場合、乳酸菌の P g 増殖抑制効果はさらに著しく高まることが明らかとなった。

実施例 9 チョコレート組成物 1 の製造

カカオマス 40 g、ココアバター 20 g を 50℃ の恒温槽中で 10 分間加温しながら、混合、溶解した。キシリトール 30 g を加えて 1 分間かき混ぜた後、ラクトバチルス・サリバリウス菌倍散物 (1 g あたり 1.3×10^{10} 個生菌を含む) 10 g を加えて、さらに 1 分間混合した。シャーレに分注して室温まで冷やした後、5℃ で 3 時間冷却固化して、チョコレート組成物 1 を得た。同じ製造法により 3 ロット製造した。

実施例 10 チョコレート組成物 1 の生菌数測定

製造したチョコレート組成物 1 を幅約 1 mm 長さ 15 mm 以内に細切し、測定用試料とした。

約 1 g を正確に秤量し、20 ml の試験管に入れ、希釈液¹⁾ を正確に 10 ml 加え、試験管ミキサーで攪拌しながら 50℃ の恒温槽で 5 分間加温して、溶解した。この 1 ml を正確に量り、希釈液を加え正確に 10 倍希釈した。この 10 倍希釈操作を更に 4 回繰り返して試験溶液とし、試験例 1 に記載した方法により生菌数を求めた。また求められた生菌数と添加時の乳酸菌理論量から生菌回収率（歩留まり）を求めた。結果を表 12 に示した。

表 12 チョコレート組成物 1 の生菌数測定

ロット	ラクトバチルス・サリバリウス生菌数	生菌回収率
1	1.2×10^8 / g	92%
2	1.2×10^8 / g	92%
3	1.3×10^8 / g	100%

実施例 11 チュアブル錠の製造

キシリトール（東和化成製）150 g、レシス（東和化成製）54 g、メチルセルロース（信越化学製）6 g、部分 α 化デンプン（旭化成工業製）45 g、ポリデキストロース（和光純薬製）30 g、ショ糖脂肪酸エステル（三菱化学フーズ製）6 g、カスターワックス（日本油脂製）6 g、軽質無水ケイ酸（フロイント産業製）3 g、ラクトバチルス・サリバリウス菌倍散物（1 g あたり 1.3×10^{11} 個の生菌を含む）15 g をビニール袋中でよく混合した後、打錠機（6B-2、菊水製作所製）を用いて打錠し、直径 15 mm、重量 1000 mg のチュアブル錠を得た。

実施例 12 徐放性口腔内挿入錠の製造

キシリトール（東和化成製）150 g、粉末還元麦芽糖（東和化成製）54 g、デキストリン（松谷化学工業製）60 g、グルテン（和光純薬製）15 g、メチルセルロース（信越化学製）6 gを転動流動層造粒機（ニューマルメライザー NQ-L a b o、不二パウダル製）を用いて80%エタノール溶液を噴霧し造粒した。造粒物を60℃で16時間通風乾燥した後に、18メッシュ篩で整粒し打錠用顆粒を得た。打錠用顆粒270 gにラクトバチルス・サリバリウス菌倍散物（1 gあたり 1.3×10^{11} の生菌を含む）15 gとカスターワックス（日本油脂製）15 gを加えよく混合した後、打錠機（R T - F 9、菊水製作所製）を用いて打錠し、直径6 mm、重量100 mgの徐放性口腔内挿入錠を得た。

試験例3 ストレプトコッカス・ミュータンス（S m）の不溶性グルカン産生に対する乳酸菌、乳酸菌及びキシリトールの混合物の効果

乳酸菌はL sを用いた。また、用いた培地は以下のとおりである。

培地A：シヨ糖を2%となるように添加したG A M培地（日水製薬）

培地B：キシリトールを1%となるように添加した培地A

S m、L sを各々培地Aで37℃、一晩前培養し各菌液を得た。この菌液0.1 mlを10 mlの培地A及び培地Bに接種し、S m及びL sの単独培養及び混合培養を37℃で24時間行った。培養液を遠心分離（8000 r p m、20分）して沈殿（菌体＋不溶性グルカン）を回収し、10 mlのリン酸緩衝生理液（以下、P B S）で3回洗浄した。0.1 N N a O H 5 mlを加えて、不溶性グルカンを溶解し、遠心分離（8000 r p m、20分）して、上清を回収した。この上清中の糖濃度をフェノール硫酸法により測定し、不溶性グルカン産生量を調べた。上清0.2 mlに5%フェノール0.2 ml、濃硫酸1 mlを加えて、

10分間静置後、混和して、さらに20分間静置した。反応液の492nmの吸光度を測定し、グルコース溶液を用いて作成した検量線に基づき、不溶性グルカン濃度を算出した。結果を表13に示した。

表13 ストレプトコッカス・ミュータンス (Sm) の不溶性グルカン産生に対する乳酸菌、乳酸菌及びキシリトールの混合物の効果

不溶性グルカン産生量 (μg/ml)					
培地A			培地B		
Sm単独	Ls+Sm	Ls単独	Sm単独	Ls+Sm	Ls単独
315	159	45	306	62	37

表13に示したように、ストレプトコッカス・ミュータンス (Sm) の不溶性グルカン産生に対し、乳酸菌 (Ls) は強い増殖抑制を示したが、キシリトールはほとんど影響しなかった。Lsにキシリトールを同時に作用させた場合、Lsの不溶性グルカン産生抑制効果はさらに著しく高まることが明らかとなった。

試験例4 乳酸菌培養液によるポルフィロモナス・ジンジバリスの増殖抑制効果を増強する物質の探索(1)

キシリトールのように、乳酸菌によるポルフィロモナス・ジンジバリス (Pg) の増殖抑制効果を増強する物質の探索を行った。用いた乳酸菌はLsであり、培地は以下のとおりである。

培地A：グルコースを1%となるように添加したGAM培地（日水製薬）

培地B：Lsの培養ろ液を30%となるように添加した培地A

Lsの培養ろ液は、培地Aで37℃、24時間培養したLsの培養液を遠心分離（8000rpm、20分）して上清を回収し、さらに無菌ろ過して調製した

もの。

P g 生菌数測定培地：硫酸ゲンタマイシンを $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ となるように添加した E G 寒天培地（光岡知足編、腸内細菌学、475 頁、朝倉書店、1990 年）

P g を培地 A で 37°C 、一晚培養した前培養液 $100 \mu\text{l}$ を 10 ml の培地 B 及び 10% の各種物質を添加した培地 B に接種し、 37°C で 24 時間培養を行った。培養液を適当に希釈し、P g 生菌数測定培地に塗布し、 37°C で 3 日間嫌気培養した。生じたコロニー数を計測し生菌数を求めた。結果を表 14 に示した。

表 14 乳酸菌培養液によるポルフィロモナス・ジンジバリス (P g) の増殖抑制効果を増強する物質の探索(1)

添加物質	Pg 生菌数 (Log10/ml)	
	L s 培養ろ液 添加	L s 培養ろ液 無添加
無添加	3.29	7.27
キシリトール	<1.0	7.20
ソルビトール	<1.0	7.25
エリスリトール	<1.0	7.21
トレハロース	<1.0	7.39
マルチトール	1.90	7.41
マンニトール	2.45	7.20

表 14 に示したように、P g の増殖に対し、ソルビトール、エリスリトール、トレハロースは、キシリトールと同様、L s の培養ろ液の増殖抑制効果を著しく増強する作用を示した。また、マルチトール、マンニトールもまた、P g 増殖抑制効果を増強する作用を有することが明らかとなった。

試験例 5 アクチノバチルス・アクチノミセテムコミタンスの増殖に対する乳酸菌培養液及びキシリトールの効果

アクチノバチルス・アクチノミセテムコミタンス（JCM8577株、以下Aa）を用いた。本試験例に用いた乳酸菌はLsであり、培地は以下の通りである。

培地A：ブレインハートインヒュージョン液体培地（ベクトンディッキンソン）

培地B：Lsの培養ろ液を25%となるように添加した培地A

Lsの培養ろ液は、グルコースを1%となるように添加したGAM培地で37°C、24時間培養したLsの培養液を遠心分離（8000rpm、20分）して上清を回収し、さらに無菌ろ過して調製したもの。

Aa生菌数測定培地：ブレインハートインヒュージョン寒天培地（ベクトンディッキンソン）

Aaを培地Aで37°C、一晚培養した前培養液を生菌数約 10^6 /mlとなるように10mlの各培地（培地A、培地B、3%、7%のキシリトールを添加した培地A及び3%、7%のキシリトールを添加した培地B）に接種し、37°Cで48時間微好気培養を行った。培養液を適当に希釈し、Aa生菌数測定培地に塗布し、37°Cで3日間嫌気培養した。生じたコロニー数を計測し、生菌数を求めた。結果を表15に示した。

表15 アクチノバチルス・アクチノミセテムコミタンスに対する乳酸菌培養液とキシリトールの増殖抑制効果

添加物質	Aa生菌数 ($\text{Log}_{10}/\text{ml}$)	
	Ls培養ろ液 添加	Ls培養ろ液 無添加
無添加	5.20	8.38
3%キシリトール	4.88	9.44
7%キシリトール	4.00	9.45

表15に示したように、Aaの増殖に対し、乳酸菌の培養ろ液は強い増殖抑制を示したが、キシリトールは影響しなかった。乳酸菌の培養ろ液にキシリトールを同時に作用させた場合、乳酸菌のAa増殖抑制効果はさらに著しく高まることが明

らかとなった。

試験例 6 フソバクテリウム・ヌクレアタムの増殖に対する乳酸菌培養液及びキシリトールの効果

フソバクテリウム・ヌクレアタム（JCM8532T株、以下Fn）を用いた。本試験例に用いた乳酸菌はLsであり、培地は以下の通りである。

培地A：グルコースを1%となるように添加したGAM培地（日水製薬）

培地B：Lsの培養ろ液を50%となるように添加した培地A

Lsの培養ろ液は、試験例 5 と同様の方法により調製したもの。

Fn生菌数測定培地：ブレインハートインヒュージョン寒天培地（ベクトンディッキンソン）

Fnを培地Aで37°C、一晚培養した前培養液を生菌数約 10^6 /mlとなるように10mlの各培地（培地A、培地B、3%、10%のキシリトールを添加した培地A及び3%、10%のキシリトールを添加した培地B）に接種し、37°Cで24時間嫌気培養を行った。培養液を適当に希釈し、Fn生菌数測定培地に塗布し、37°Cで3日間嫌気培養した。生じたコロニー数を計測し、生菌数を求めた。結果を表 1 6 に示した。

表 1 6 フソバクテリウム・ヌクレアタムに対する乳酸菌培養液とキシリトールの増殖抑制効果

添加物質	Fn生菌数 ($\text{Log}_{10}/\text{ml}$)	
	Ls培養ろ液 添加	Ls培養ろ液 無添加
無添加	4.15	9.23
3%キシリトール	2.94	8.89
10%キシリトール	1.00	8.41

表 1 6 に示したように、Fnの増殖に対し、乳酸菌の培養ろ液は強い増殖抑制を

示したが、キシリトールはほとんど影響しなかった。乳酸菌の培養ろ液にキシリトールを同時に作用させた場合、乳酸菌のFn増殖抑制効果はさらに著しく高まることが明らかとなった。

試験例7 ポルフィロモナス・ジンジバリスの口腔細胞への付着に対する乳酸菌培養液およびキシリトールの抑制効果

乳酸菌はLsを用いた。Lsの培養ろ液は、グルコースを1%となるように添加したGAM培地で37°C、24時間培養したLsの培養液を遠心分離（8000rpm、20分）して上清を回収し、さらに無菌ろ過後、1N水酸化ナトリウムで中和したもの。

Pgをグルコースが1%となるように添加したGAM培地で37°C、一晚培養した。PBSで洗浄し、生菌数が 10^7 /mlになるように以下の各培地（培地A、培地B、2.5%、5%、10%のキシリトールを添加した培地A及び2.5%、5%、10%のキシリトールを添加した培地B）に懸濁し、細胞付着用のPg懸濁液を調製した。

培地A：DMEM/F-12培地（キブコ）

培地B：Lsの培養ろ液を25%となるように添加した培地A

口腔細胞は、ヒト口腔培養細胞H01-u-1（JCRB0828株）を用いた。細胞は、 4×10^5 cells/wellになるように24穴プレートに播種し、37°C、5%CO₂条件下で一晚培養し単層を形成させた。PBSで3回洗浄後、細胞付着用のPg懸濁液を1ml添加し、37°C、5%CO₂条件下で1.5時間静置した。細胞をPBSで3回洗浄した後、滅菌水1mlを加え、10分間室温に静置して、細胞を剥離した。PBSで適宜希釈した後、細胞に付着したPgの生菌数を測定した。測定には5%ウマ脱繊維血を含むEG寒天培地を用い、37°C、嫌気条件下で3日間培養した。結果を表17に示した。

表 1 7 ポルフィロモナス・ジンジバリスの口腔細胞への付着に対する乳酸菌培養液およびキシリトールの抑制効果

乳酸菌培養液	キシリトール濃度 (%)	付着率 (%) mean ± SD (n=3)
無添加	0 (対照)	2.34 ± 0.96
	2.5	1.34 ± 0.52
	5	2.03 ± 1.79
	10	1.01 ± 1.45
添加	0	1.54 ± 0.38
	2.5	0.95 ± 0.31
	5	0.60 ± 0.00*#
	10	0.26 ± 0.17*#

付着率 (%) ; 付着菌数/添加菌数 × 100

* ; $p < 0.05$ (対照との比較)

; $p < 0.05$ (Ls培養液添加との比較)

(Student's t-test)

表 1 7 に示したように、Pgの口腔細胞への付着に対し、Lsの培養液は抑制作用を示したが、キシリトールは影響しなかった。さらに乳酸菌の培養液にキシリトールを同時に作用させた場合、キシリトールの添加濃度に依存して付着抑制作用が高まった。特にキシリトール5%、10%添加では対照および乳酸菌培養液単独添加に対して有意な抑制が認められた。

試験例 8 乳酸菌培養液によるポルフィロモナス・ジンジバリスの増殖抑制効果を増強する物質の探索 (2)

キシリトールのように、乳酸菌によるポルフィロモナス・ジンジバリスの増殖抑制効果を増強する物質の探索を行った。本試験例に用いた乳酸菌はLsであり、培地は以下の通りである。

培地A : グルコースを1%となるように添加したGAM培地 (日水製薬)

培地B：Lsの培養ろ液を25%となるように添加した培地A

Lsの培養ろ液は、培地Aで37℃、24時間培養したLsの培養液を遠心分離（8000rpm、20分）して上清を回収し、さらに無菌ろ過して調製したもの。

Pg生菌数測定培地：硫酸ゲンタマイシンを10 μ g/mlとなるように添加したEG寒天培地

Pgを培地Aで37℃、一晚培養した前培養液100 μ lを10mlの培地B及び0.2～10%の各種物質を添加した培地Bに接種し、37℃で9時間培養を行った。培養液を適当に希釈し、Pg生菌数測定培地に塗布し、37℃で3日間嫌気培養した。生じたコロニー数を計測し、生菌数を求めた。結果を表18、表19に示した。なお表18、表19に示す実験は独立に行ったため、表18の添加物質無添加の場合のPg生菌数と、表19の添加物質無添加の場合のPg生菌数の数値は異なっている。

各種植物抽出物、紅麴、ウコン色素、酵素分解甘草、グリチルリチンは丸善製薬社製のものを用了。

表 1 8 乳酸菌培養液によるポルフィロモナス・ジンジバリスの増殖抑制効果を
増強する物質の探索

添加物質（濃度%）	Pg生菌数（Log ₁₀ /ml）	
	Ls培養ろ液 添加	Ls培養ろ液 無添加
無添加	6.26	7.26
キシリトール(10)	1.30	7.83
パラチノース(10)	3.00	8.00
還元乳糖(10)	2.08	7.86
ショ糖(10)	4.45	7.40
果糖(10)	3.23	7.33
ブドウ糖(10)	1.60	7.53
フラクトオリゴ糖(10)	5.23	7.48
アスパルテーム(10)	<1.0	6.30
エゾウコギ抽出物(10)	<1.0	6.38
ドクダミ抽出物(10)	<1.0	5.84
紅麴(10)	5.60	7.48
ウコン色素(10)	4.56	7.80
カリン抽出物(10)	3.96	7.09
霊芝抽出物(10)	4.38	7.77
サンザシ抽出物(10)	<1.0	6.74
シイタケ抽出物(10)	<1.0	3.69

表 1 9 乳酸菌培養液によるポルフィロモナス・ジンジバリスの増殖抑制効果を
増強する物質の探索

添加物質（濃度%）	Pg生菌数（Log ₁₀ /ml）	
	Ls培養ろ液 添加	Ls培養ろ液 無添加
無添加	4.94	8.10
月桃葉抽出物(2)	4.2	7.82
ステビア抽出物(0.2)	1.9	7.78
ハス胚芽抽出物(2)	1.6	7.20
ラカンカ抽出物(2)	<1.0	7.59
緑茶抽出物(0.4)	<1.0	6.45
マリアアザミ抽出物(2)	<1.0	7.72
紫玄米抽出物(2)	<1.0	7.30
酵素分解甘草(0.2)	<1.0	7.36
黄杞葉抽出物(0.4)	<1.0	6.38
イチヨウ抽出物(0.4)	<1.0	5.92
ルイボス茶抽出物(1)	<1.0	5.41
ヨモギ抽出物(1)	<1.0	4.82
グリチルリチン(0.4)	<1.0	6.38
ギムネマ抽出物(0.2)	<1.0	5.79
刺梨抽出物(1)	<1.0	2.2

表 1 8、表 1 9 に示したように、Pgの増殖に対し、パラチノース、還元乳糖、シヨ糖、果糖、ブドウ糖、フラクトオリゴ糖、アスパルテーム、エゾウコギ抽出物、ドクダミ抽出物、紅麹、ウコン色素、カリン抽出物、霊芝抽出物、サンザシ抽出物、シイタケ抽出物、月桃葉抽出物、ステビア抽出物、ハス胚芽抽出物、ラカンカ抽出物、緑茶抽出物、マリアアザミ抽出物、紫玄米抽出物、酵素分解甘草、黄杞葉抽出物、イチヨウ抽出物、ルイボス茶抽出物、ヨモギ抽出物、グリチルリチン、ギムネマ抽出物、刺梨抽出物は、キシリトールと同様、Lsの培養ろ液の増殖抑制効果を著しく増強する作用を示した。

試験例 9 ポルフィロモナス・ジンジバリスの増殖に対する乳酸菌（ビフィズス

菌) 培養液及びキシリトールの効果

本試験例に用いた乳酸菌はビフィズス菌の2菌種ビフィドバクテリウム・ロングム (*Bifidobacterium longum* WB1001株 (FERM P-12610)、以下B1) 及びビフィドバクテリウム・ビフィダム (*Bifidobacterium bifidum* WB1003株 (FERM P-12612)、以下Bb) であり、培地は以下の通りである。

培地A：グルコースを1%となるように添加したGAM培地 (日水製薬)

培地B：B1の培養ろ液を20%となるように添加した培地A

培地C：Bbの培養ろ液を35%となるように添加した培地A

B1及びBbの培養ろ液は、各菌株を、培地Aで37°C20時間培養した培養液を遠心分離 (8000 rpm、20分) して上清を回収し、さらに無菌ろ過して調製したもの。

Pg生菌数測定培地：硫酸ゲンタマイシンを10 μ g/mlとなるように添加したEG寒天培地

Pgを培地Aで37°C、一晚培養した前培養液100 μ lを10mlの培地B、培地C、10%のキシリトールを添加した培地B及び10%のキシリトールを添加した培地Cに接種し、37°Cで9時間培養を行った。培養液を適当に希釈し、Pg生菌数測定培地に塗布し、37°Cで3日間嫌気培養した。生じたコロニー数を計測し、生菌数を求めた。結果を表20に示した。

表20 ポルフィロモナス・ジンジバリスに対するビフィズス菌培養液とキシリトールの増殖抑制効果

添加物質	Pg生菌数 (Log10/ml)			
	B1培養ろ液 添加	B1培養ろ液 無添加	Bb培養ろ液 添加	Bb培養ろ液 無添加
無添加	6.68	8.20	7.95	7.90
10%キシリトール	5.33	7.60	6.6	7.67

表 2 0 に示したように、Pgの増殖に対し、Blの培養ろ液、Bbの培養ろ液、及びキシリトールはほとんど影響しなかった。ビフィズス菌の培養ろ液にキシリトールを同時に作用させた場合、Pg増殖抑制効果はさらに著しく高まることが明らかとなった。

試験例 1 0 プレボテラ・インターメディアの増殖に対する乳酸菌培養液及びキシリトールの効果

プレボテラ・インターメディア（JCM7365株、以下Pi）を用いた。本試験例に用いた乳酸菌はLsであり、培地は以下の通りである。

培地A：グルコースを1%となるように添加したGAM培地（日水製薬）

培地B：Lsの培養ろ液を50%となるように添加した培地A

Lsの培養ろ液は、試験例 5 と同様の方法により調製したもの。

Pi生菌数測定培地：5%ウマ脱繊維血を含むEG寒天培地

Piを培地Aで37℃、一晚培養した前培養液を生菌数約10⁷/mlとなるように10mlの各培地（培地A、培地B、10%のキシリトールを添加した培地A及び10%のキシリトールを添加した培地B）に接種し、37℃で24時間嫌気培養を行った。培養液を適当に希釈し、Pi生菌数測定培地に塗布し、37℃で3日間嫌気培養した。生じたコロニー数を計測し、生菌数を求めた。結果を表 2 1 に示した。

表 2 1 プレボテラ・インターメディアに対する乳酸菌培養液とキシリトールの増殖抑制効果

添加物質	Pi生菌数 (Log10/ml)	
	Ls培養ろ液 添加	Ls培養ろ液 無添加
無添加	7.48	7.87
10%キシリトール	7.05	8.23

表 2 1 に示したように、Piの増殖に対し、乳酸菌の培養ろ液は強い増殖抑制を示したが、キシリトールは影響しなかった。乳酸菌の培養ろ液にキシリトールを同時に作用させた場合、乳酸菌のPi増殖抑制効果はさらに著しく高まることが明らかとなった。

産業上の利用可能性

本発明の生きた乳酸菌、該乳酸菌含有物、該乳酸菌培養ろ液、及びその処理物からなる群から選ばれた少なくとも1種と、キシリトール、ソルビトール、エリスリトール、トレハロース、マルチトール、マンニトール、パラチノース、還元乳糖、ショ糖、果糖、ブドウ糖、フラクトオリゴ糖、アスパルテーム、エゾウコギ抽出物、ドクダミ抽出物、紅麹、ウコン色素、カリン抽出物、霊芝抽出物、サンザシ抽出物、シイタケ抽出物、月桃葉抽出物、ステビア抽出物、ハス胚芽抽出物、ラカンカ抽出物、緑茶抽出物、マリアアザミ抽出物、紫玄米抽出物、酵素分解甘草、黄杞葉抽出物、イチヨウ抽出物、ルイボス茶抽出物、ヨモギ抽出物、グリチルリチン、ギムネマ抽出物、及び刺梨抽出物からなる群から選ばれた少なくとも1種とを含有する口腔内疾患の予防及び／又は治療用組成物、特にチューインガム組成物は良好な徐放性により、口腔内に持続的に乳酸菌を滞留させることができ、安全で、簡便で、効率的な口腔内疾患の予防と治療に用いることができる。

請求の範囲

1. 生きた乳酸菌、該乳酸菌含有物、該乳酸菌培養液、及びその処理物からなる群から選ばれた少なくとも1種と、キシリトール、ソルビトール、エリスリトール、トレハロース、マルチトール、マンニトール、パラチノース、還元乳糖、ショ糖、果糖、ブドウ糖、フラクトオリゴ糖、アスパルテーム、エゾウコギ抽出物、ドクダミ抽出物、紅麹、ウコン色素、カリン抽出物、霊芝抽出物、サンザシ抽出物、シイタケ抽出物、月桃葉抽出物、ステビア抽出物、ハス胚芽抽出物、ラカンカ抽出物、緑茶抽出物、マリアアザミ抽出物、紫玄米抽出物、酵素分解甘草、黄杞葉抽出物、イチヨウ抽出物、ルイボス茶抽出物、ヨモギ抽出物、グリチルリチン、ギムネマ抽出物、及び刺梨抽出物からなる群から選ばれた少なくとも1種とを含有する口腔内疾患の予防及び／又は治療用組成物。

2. 乳酸菌がラクトバチルス属に属する乳酸菌である請求項1記載の組成物。

3. ラクトバチルス属に属する乳酸菌が

ラクトバチルス・サリバリウス、ラクトバシルス・アシドフィルス、ラクトバチルス・ガッセリ、ラクトバチルス・ラムノーサス及びラクトバチルス・ジョンソニーからなる群から選ばれる1種又は2種以上である請求項1又は2記載の組成物。

4. 口腔内疾患が虫歯又は歯周病である請求項1～3のいずれか1項記載の組成物。

5. 食品又は口腔用組成物の形態にある請求項1～4のいずれか1項記載の組成物。

6. チューインガム、キャンデー、チョコレート、チュアブル錠、又は歯磨きの形態にある請求項1～4のいずれか1項記載の組成物。

7. 生きた乳酸菌、該乳酸菌含有物、該乳酸菌培養液、及びその処理物からなる群から選ばれた少なくとも1種と、キシリトール、ソルビトール、エリスリトール、トレハロース、マルチトール、マンニトール、パラチノース、還元乳糖、ショ糖、果糖、ブドウ糖、フラクトオリゴ糖、アスパルテーム、エゾウコギ抽出

物、ドクダミ抽出物、紅麴、ウコン色素、カリン抽出物、霊芝抽出物、サンザシ抽出物、シイタケ抽出物、月桃葉抽出物、ステビア抽出物、ハス胚芽抽出物、ラカンカ抽出物、緑茶抽出物、マリアアザミ抽出物、紫玄米抽出物、酵素分解甘草、黄杞葉抽出物、イチヨウ抽出物、ルイボス茶抽出物、ヨモギ抽出物、グリチルリチン、ギムネマ抽出物、及び刺梨抽出物からなる群から選ばれた少なくとも 1 種とを含有する虫歯菌及び／又は歯周病菌の増殖抑制用組成物。

8. 虫歯菌及び／又は歯周病菌が、ストレプトコッカス・ミュータンス、ポルフィロモナス・ジンジバリス、アクチノバチルス・アクチノミセテムコミタンス、フソバクテリウム・ヌクレアタム及びプレボテラ・インターメディアからなる群から選ばれる少なくとも 1 種である請求項 7 記載の組成物。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/03293

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K35/74, 31/047, 31/7004, 31/7016, 31/702, 38/05, 35/78, 7/26, 7/16, A61P1/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K35/74, 31/047, 31/7004, 31/7016, 31/702, 38/05, 35/78, 7/26, 7/16, A61P1/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAPLUS (STN), MELINE (STN), EMBASE (STN), BIOSIS (STN), JICST (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	EP 154549 A2 (Kabushiki Kaisha Advance Kaihatsu kenkyujo), 11 September, 1985 (11.09.85), Full text & EP 154549 B & US 4746512 A & DE 3581091 G & JP 60-190707 A & JP 61-91126 A & JP 4-52249 B & CA 1262442 A	1-8
Y	WO 99/07826 A1 (OH, Jong, Suk), 18 February, 1999 (18.02.99), Full text & EP 1002052 A1 & US 6036952 A & JP 2001-512670 A & AU 9881312 A1 & BR 9814737 A	1-8

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 19 June, 2002 (19.06.02)	Date of mailing of the international search report 02 July, 2002 (02.07.02)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/03293

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DE 2606533 A1 (F. Hoffmann-La Roche & Co., AG.), 26 August, 1976 (26.08.76), Full text & JP 51-106741 A & ZA 7600735 A & IL 48997 A1 & AU 7610980 A1 & NL 7601550 A & SE 7601894 A & BE 838702 A1 & DK 7600697 A	1-8
Y	JP 10-81617 A (Lion Corp.), 31 March, 1998 (31.03.98), Particularly, Abstract (Family: none)	1-8
Y	JP 2000-154127 A (Lion Corp.), 05 June, 2000 (05.06.00), Particularly, Abstract (Family: none)	1-8
Y	JP 2000-270810 A (Sunstar, Inc.), 03 October, 2000 (03.10.00), Particularly, Abstract; Par. Nos. [0008], [0017] (Family: none)	1-8
Y	JP 3-53848 A (Sanyo-Kokusaku Pulp Co., Ltd.), 07 March, 1991 (07.03.91), Particularly, Claims; page 2, right column, lines 8 to 14 (Family: none)	1-8
Y	JP 9-200 A (Meiji Seika Kaisha, Ltd.), 07 January, 1997 (07.01.97), Particularly, Abstract; Par. No. [0019] (Family: none)	1-8
Y	GB 2317339 A1 (The Procter & Gamble co.), 25 March, 1998 (25.03.98), Particularly, Abstract (Family: none)	1-8
Y	JP 4-5222 A (Kao Corp.), 09 January, 1992 (09.01.92), Particularly, Claims; effect of the invention (Family: none)	1-8
Y	HADA, Sumitra et al., Dental caries prevention by traditional medicines. XII. Effect of components of Ganoderma lucidum on glucosyltransferase from Streptococcus mutans, Wakan Iyaku Gakkaishi, 1989, Vol.6, No.2, PP.100-7 Particularly, Abstract	1-8
Y	SAKAKURA, S. et al., Green tea polyphenols for prevention of dental caries, Chemistry and Applications of Green Tea, Editor(s): YAMAMOTO, Takehito., Publisher: CRC, Boca Raton, Fla., 1997, pages 87 to 101	1-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/03293

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 1-190624 A (Ito En, Ltd.), 31 July, 1989 (31.07.89), Particularly, Claims; effect of the invention (Family: none)	1-8
Y	EP 1072254 A1 (Sunstar, Inc.), 31 January, 2001 (31.01.01), Particularly, Abstract; Claims; Par. No. [0024] & WO 99/55298 A1 & JP 11-302142 A & CA 2330128 A	1-8
Y	WO 99/44440 A1 (Sunstar, Inc.), 10 September, 1999 (10.09.99), Particularly, Claims & JP 11-243910 A	1-8
Y	JP 258105 A (Maruzen Pharmaceuticals Co., Ltd.), 09 October, 1995 (09.10.95), Particularly, Abstract; Claims; Par. No. [0015] (Family: none)	1-8
Y	JP 8-310931 A (Maruzen Pharmaceuticals Co., Ltd.), 26 November, 1996 (26.11.96), Particularly, Abstract; Claims; Par. No. [0014] (Family: none)	1-8
Y	JP 10-139646 A (Maruzen Pharmaceuticals Co., Ltd.), 26 May, 1998 (26.05.98), Particularly, Abstract; Claims; Par. No. [0017] (Family: none)	1-8
Y	US 4912089 A (Yasutake HIJI), 27 March, 1990 (27.03.90), Particularly, Abstract; Claims & JP 63-119416 A & JP 2-33685 B & JP 63-208532 A & JP 3-78846 B	1-8
Y	JP 9-238642 A (Towa Kagaku Kogyo Kabushiki Kaisha), 16 September, 1997 (16.09.97), Particularly, Abstract (Family: none)	1-8
Y	JP 2000-72790 A (Maruzen Pharmaceuticals Co., Ltd.), 07 March, 2000 (07.03.00), Particularly, Abstract; Claims; Par. Nos. [0014], [0017], [0024] (Family: none)	1-8
Y	JP 2001-81021 A (Ichimaru Pharcos Co., Ltd.), 27 March, 2001 (27.03.01), Particularly, Par. No. [0026] (Family: none)	1-8
Y	JP 6-179780 A (Mitsubishi Petrochemical Co., Ltd.), 28 August, 1994 (28.08.94), Particularly, Abstract; Par. Nos. [0010], [0011] (Family: none)	1-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/03293

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>WO 95/21018 A1 (Centre National de La Recherche Scientifique), 10 August, 1995 (10.08.95), Particularly, Abstract; Revendications; page 6, lines 8 to 16</p> <p>& EP 691886 A1 & EP 691886 B1 & US 5780060 A & FR 2715582 A1 & FR 2715582 B1 & JP 8-508677 A & CA 2159353 A & AU 9516665 A1 & AU 690215 B2 & ES 2130594 T3</p>	1-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/03293

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Since compositions for preventing and/or treating oral diseases which contain vital lactic acid bacteria, materials containing the lactic acid bacteria, culture filtrate of the lactic acid bacteria or processed products thereof are not novel, the technical feature of claims 1 to 8 resides in the combination of the vital lactic acid bacteria, materials containing the lactic acid bacteria, culture filtrate of the lactic acid bacteria or processed products thereof with other components cited such as xylitol. There is no technical relationship common to the cited components and, consequently, there is no technical relationship exceeding the prior art among claims 1 to 8. Such being the case, there is no single general inventive concept common to

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/03293

Continuation of Box No.II of continuation of first sheet(1)

these claims and thus the present case has 36 inventions, i.e., the same as the number of the cited components.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl¹ A61K35/74, 31/047, 31/7004, 31/7016, 31/702, 38/05, 35/78, 7/26, 7/16, A61P1/02

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl¹ A61K35/74, 31/047, 31/7004, 31/7016, 31/702, 38/05, 35/78, 7/26, 7/16, A61P1/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS(STN), MELINE(STN), EMBASE(STN), BIOSIS(STN), JICST(JOIS)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	EP 154549 A2(KABUSHIKI KAISYA ADVANCE KAIHATSU KENKYUJO)1985.09.11 文献全体 & EP 154549 B & US 4746512 A & DE 3581091 G & JP 60-190707 A & JP 61-91126 A & JP 4-52249 B & CA 1262442 A	1 - 8

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

19.06.02

国際調査報告の発送日

02.07.02

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

滝下 浩一

4C

9284

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	WO 99/07826 A1(OH, Jong, Suk)1999.02.18 文献全体 & EP 1002052 A1 & US 6036952 A & JP 2001-512670 A & AU 9881312 A1 & BR 9814737 A	1-8
Y	DE 2606533 A1(F.Hoffmann-La Roche & Co AG)1976.08.26 文献全体 & JP 51-106741 A & ZA 7600735 A & IL 48997 A1 & AU 7610980 A1 & NL 7601550 A & SE 7601894 A & BE 838702 A1 & DK 7600697 A	1-8
Y	JP 10-81617 A(ライオン株式会社)1998.03.31 特に、【要約】 (ファミリーなし)	1-8
Y	JP 2000-154127 A(ライオン株式会社)2000.06.05 特に、【要約】 (ファミリーなし)	1-8
Y	JP 2000-270810 A(サンスター株式会社)2000.10.03 特に、【要約】、【0008】、【0017】 (ファミリーなし)	1-8
Y	JP 3-53848 A(山陽国策パルプ株式会社)1991.03.07 特に、特許請求の範囲、第2ページ 右欄第8-14行 (ファミリーなし)	1-8
Y	JP 9-200 A(明治製菓株式会社)1997.01.07 特に、【要約】、【0019】 (ファミリーなし)	1-8
Y	GB 2317339 A1(The Procter & Gamble Company) 1998.03.25 特に、Abstract (ファミリーなし)	1-8
Y	JP 4-5222 A(花王株式会社)1992.01.09 特に、特許請求の範囲、【発明の効果】 (ファミリーなし)	1-8

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	HADA, Sumitra et al, Dental caries prevention by traditional medicines.XII. Effect of components of Ganoderma lucidum onglucosyltransferase from Streptococcus mutans, Wakan Iyaku Gakkaishi, 1989, Vol.6, No.2, pp.100-7 特に、Abstract	1 - 8
Y	SAKAKURA, S.et al, Green tea polyphenols for prevention of dental caries, Chemistry and Applications of Green Tea, Editor(s): Yamamoto, Takehiko., Publisher: CRC, Boca Raton, Fla., 1997, pp.87-101.	1 - 8
Y	JP 1-190624 A (株式会社伊藤園) 1989.07.31 特に、特許請求の範囲、【発明の効果】 (ファミリーなし)	1 - 8
Y	EP 1072254 A1(Sunstar, Inc.) 2001.01.31 特に、Abstract, Claims, [0024] & WO 99/55298 A1 & JP 11-302142 A & CA 2330128 A	1 - 8
Y	WO 99/44440 A1(サンスター株式会社) 1999.09.10 特に、請求の範囲 & JP 11-243910 A	1 - 8
Y	JP 7-258105 A (丸善製薬株式会社) 1995.10.09 特に、【要約】、【特許請求の範囲】、【0015】 (ファミリーなし)	1 - 8
Y	JP 8-310931 A (丸善製薬株式会社) 1996.11.26 特に、【要約】、【特許請求の範囲】、【0014】 (ファミリーなし)	1 - 8
Y	JP 10-139646 A (丸善製薬株式会社) 1998.05.26 特に、【要約】、【特許請求の範囲】、【0017】 (ファミリーなし)	1 - 8
Y	US 4912089 A (Yasutake Hiji) 1990.03.27 特に、Abstract, Claims & JP 63-119416 A & JP 2-33685 B & JP 63-208532 A & JP 3-78846 B	1 - 8
Y	JP 9-238642 A (東和化学工業株式会社) 1997.09.16 特に、【要約】 (ファミリーなし)	1 - 8

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 2000-72790 A (丸善製薬株式会社) 2000.03.07 特に、【要約】、【特許請求の範囲】、【0014】、 【0017】、【0024】 (ファミリーなし)	1-8
Y	JP 2001-81021 A (一丸ファルコス株式会社) 2001.03.27 特に、【0026】 (ファミリーなし)	1-8
Y	JP 6-179780 A (三菱油化株式会社) 1994.08.28 特に、【要約】、【0010】、【0011】 (ファミリーなし)	1-8
Y	WO 95/21018 A1 (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE) 1995.08.10 特に、Abstract, REVENDICATIONS, 第6ページ 第8-16行 & EP 691886 A1 & EP 691886 B1 & US 5780060 A & FR 2715582 A1 & FR 2715582 B1 & JP 8-508677 A & CA 2159353 A & AU 9516665 A1 & AU 690215 B2 & ES 2130594 T3	1-8

第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

生きた乳酸菌、該乳酸菌含有物、該乳酸菌培養液又はその処理物を含有するを含有する口腔内疾患の予防及び／又は治療用組成物が新規性を有しない以上、請求の範囲1-8の技術的特徴は、生きた乳酸菌、該乳酸菌含有物、該乳酸菌培養液又はその処理物とキシリトール等列記された他の成分との組み合わせとなる。そして、上記列記された他の成分間に共通の技術的關係がなく、よって、請求の範囲1-8は、相互間に先行技術以上の技術的な關係がなく、共通する単一の一般的発明概念は存在しなくなり、列記された他の成分の数と同数の36の発明が存在する。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☒ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。